

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC  
UNIDADE ACADÊMICA DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE  
MESTRADO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**JOANA MACCARINI TORQUATO**

**EFEITOS DA MOBILIZAÇÃO MOTORA PRECOCE EM PACIENTES EM VENTILAÇÃO  
MECÂNICA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense para obtenção do título de Mestre em Ciências da saúde.

Orientador: Prof.<sup>º</sup> Dr. Ricardo Aurino Pinho.

**CRICIÚMA, 2012**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

T687e      Torquato, Joana Maccarini.  
              Efeitos da mobilização motora precoce em pacientes  
              em ventilação mecânica / Joana Maccarini Torquato ;  
              orientador: Ricardo Aurino Pinho. – Criciúma : Ed. Do  
              Autor, 2012.  
              53 f. : il. ; 30 cm.  
  
              Dissertação (Mestrado) - Universidade do Extremo Sul  
              Catarinense, Programa de Pós-Graduação em Ciências da  
              Saúde, Criciúma, 2012.  
  
              1. Respiradores (Medicina). 2. Insuficiência  
              respiratória. 3. Estimulação elétrica. 4. Estresse oxidativo.  
              I. Título.

CDD. 21ª ed. 615.836

Bibliotecária Eliziane de Lucca Alosilla – CRB – 14/1101  
Biblioteca Central Prof. Eurico Back - UNESC



UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE – UNESC

Pró-Reitoria de Pós-Graduação, Pesquisa e Extensão

Unidade Acadêmica de Ciências da Saúde

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado)

Recomendado pela CAPES – Homologado pelo CNE – Portaria Nº 1.919 de 03.06.2005

## PARECER

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado de Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (Mestrado e Doutorado) reuniram-se para realizar a arguição da Dissertação de MESTRADO apresentado pela candidata **Joana Maccarini Torquato**, sob o título “**Efeitos da mobilização motora precoce em pacientes em ventilação mecânica**” para obtenção do grau de **MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE** do Curso de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC.

Após haver analisado o referido trabalho e argüido à candidata, os membros são de parecer pela “**APROVAÇÃO**” da Dissertação, com conceito B.

Criciúma, SC, 31 de agosto de 2012

**Prof. Dr. Fábio Santos de Lira**

Membro Relator

**Prof. Dr. Eduardo Ghisi Victor**

Membro Interno

**Profa. Dra. Luciane Bisognin Ceretta**

Membro Interno

**Prof. Dr. Ricardo Aurino de Pinho**

Orientador

**Prof. Dr. João Luciano de Quevedo**

Coordenador Interino do PPGCS

## RESUMO

A ventilação mecânica (VM) é um apoio essencial ventilatório em pacientes com insuficiência respiratória aguda em unidades de terapia intensiva (UTI), mas longos períodos de exposição a VM pode promover várias mudanças no quadro clínico e no estado redox. Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos de diferentes protocolos fisioterapêuticos (eletroestimulação e exercício passivo) e a relação destes protocolos com indicadores clínicos e os parâmetros de dano oxidativo em pacientes expostos à VM. Oitenta e seis pacientes, com idade superior a 18 anos, de ambos os gêneros sob VM por mais de 2 dias e que permaneceram na UTI pelo menos por 5 dias foram divididos em 4 grupos: controle ( $n = 24$ ), exercício passivo ( $n = 19$ ), eletroestimulação ( $n = 21$ ) e exercício passivo mais eletroestimulação ( $n = 22$ ). Os dados clínicos foram coletados diariamente por meio do registro médico do paciente e as amostras de sangue (3-mL) foram coletadas de cada paciente, duas vezes, uma no início da aplicação de protocolos (basal) e no final do tratamento para análise de danos oxidativos. Em relação as características dos pacientes, não existem grandes diferenças significativas observadas entre os grupos, embora a morte durante o protocolo apresentou uma associação limítrofe ( $F = 7,296$ ,  $p = 0,048$ ). Os dados clínicos, não apresentaram diferenças significativas entre os grupos, quer nos valores basais ou a última observação realizada (LOCF). Embora não tenhamos observado diferenças significativas na variação basais no conteúdo total de tióis ( $H = 2,904$ ,  $p = 0,406$ ), uma variação significativa foi observada em xilenol entre os grupos ( $H = 19,521$ ,  $p = 0,0002$ ). Análise post hoc indicaram diferenças significativas entre o protocolo 1 e 4 ( $q = 3,912$ ), bem como 1 e 3 ( $q = 3,430$ ). A variação no conteúdo xilenol não mostrou correlação com o tempo de exposição a VM ( $p = 0,943$ ). Não foi possível fornecer resultados conclusivos sobre os efeitos dos protocolos usados. No entanto, há evidências de que as rotinas terapêuticas contribuem para reduzir os danos oxidativos. Sugere-se estudos futuros com maior controle das variáveis que garantem uma melhor estratificação dos indivíduos.

**Palavras-chave:** ventilação mecânica, exercícios, estimulação elétrica, o dano oxidativo, estresse oxidativo.

## ABSTRACT

The mechanical ventilation (MV) is an essential ventilatory support in patients with acute respiratory insufficiency in intensive care units (ICU), but long periods of exposure to MV can promote several changes in the clinical and redox state. This study aimed to evaluate the effects of different physical therapy protocols (electrical stimulation and passive exercise) and the relation these protocols on clinical indicators and oxidative damage parameters in patients exposed to MV. 86 patients, age > 18 yrs, both sex under MV for more than 2 days and to stayed in the ICU for at least 5 days were divided into 4 groups: control (n=24), passive exercise (n=19), electrical stimulation (n=21) and passive exercise plus electrical stimulation (n=22). The clinical data were collected daily and noted in the patient's medical record and blood samples (3-mL) were collected from each patient twice, at the beginning of the implementation of protocols (baseline) and at the end of treatment for oxidative damage analysis. In relation the characteristics of patients, no major significant differences were observed between groups although death during protocol presented a borderline association ( $F = 7.296$ ,  $p = 0.048$ ). Clinical data, no was observed significant difference between groups either on baseline or on their the Last Observation Carried Forward (LOCF). While we have not observed significant differences on thiol content variation from baseline ( $H = 2.904$ ,  $p = 0.406$ ), xylenol variation was significant between groups ( $H = 19.521$ ,  $p = 0.0002$ ). Post hoc analysis indicated significant differences between protocol 1 and 4 ( $q = 3.912$ ) as well as 1 and 3 ( $q = 3.430$ ). Observed variation on xylenol content is not explained by protocol length ( $p = 0.943$ ). It was not possible to provide conclusive results about the effects of the protocols used. However, there is evidence that the therapeutic routines that contribute for reduce oxidative damage. However it is suggested future studies with greater control of the variables ensuring better stratification of subjects.

**Key words:** Mechanical ventilation, exercise, electrical stimulation, oxidative damage, oxidative stress.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>7</b>
<b>1.1 Fisioterapia em UTI .....</b>	<b>8</b>
<b>1.2 Estresse Oxidativo e ventilação mecânica.....</b>	<b>8</b>
<b>1.3 Alterações hemodinâmicas durante ventilação mecânica e desmame .....</b>	<b>10</b>
<b>1.4 Eletroestimulação .....</b>	<b>11</b>
<b>1.5 Mobilização Precoce .....</b>	<b>11</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>12</b>
<b>3 MATERIAIS E METODOS .....</b>	<b>13</b>
<b>3.1 Amostras .....</b>	<b>13</b>
<b>3.2 Protocolo de tratamento.....</b>	<b>13</b>
<b>3.3 Coleta dos dados clínicos .....</b>	<b>13</b>
<b>3.4 Coleta de sangue.....</b>	<b>13</b>
<b>3.5 Parâmetros de dano oxidativo.....</b>	<b>14</b>
<b>3.6 Determinação de proteínas totais .....</b>	<b>14</b>
<b>3.7 Tratamento estatístico .....</b>	<b>14</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>15</b>
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>19</b>
<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>20</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>25</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A ventilação mecânica (VM) é um suporte ventilatório fundamental em pacientes com insuficiência respiratória aguda nas unidades de terapia intensiva (UTI) (ESTEBAN et. al., 2000). Além da insuficiência respiratória aguda, outras causas de internação como, por exemplo, *overdose* de drogas e procedimentos cirúrgicos são condições que freqüentemente necessitam desse suporte com intuito de manter as trocas respiratórias em condições adequadas (HARRISON et. al., 2002).

De acordo com o III Consenso Brasileiro de Ventilação Mecânica (2007) a VM classifica-se em dois grandes grupos: VM invasiva e VM não invasiva. Nas duas situações, a ventilação artificial é conseguida com a aplicação de pressão positiva nas vias aéreas. A diferença entre elas fica na forma de liberação de pressão: enquanto na ventilação invasiva utiliza-se uma prótese introduzida na via aérea, isto é, um tubo oro ou nasotraqueal (menos comum) ou uma cânula de traqueostomia, na ventilação não invasiva, utiliza-se uma máscara como interface entre o paciente e o ventilador artificial.

A independência da VM, denominado como desmame, é um processo delicado e que necessita de cuidados especiais, pois durante esse período o risco de morbidade e mortalidade aumenta substancialmente (ESTEBAN et. al., 1994). Estudos sugerem que complicações clínicas durante o desmame pode estar associado com disfunção contrátil da musculatura diafragmática, o que resulta na incapacidade dos músculos respiratórios em manter a ventilação em níveis adequados (ANZUETO et. al., 1997 ;SHANELY et. al., 2002; BETTERS et. al., 2004 MULLER et. al., 2004; MAES et. al., 2008) e consequente atrofia. Recentes estudos sugerem que essas alterações na função dos músculos respiratórios estão associadas a alterações clínicas e com aumento no estresse oxidativo (BETTERS et. al., 2004; MCCLUNG et. al., 2008).

O aumento no trabalho ventilatório pode fazer com que haja um desequilíbrio na redistribuição do fluxo sanguíneo (CHIAPPA et. al., 2008; BORGHI-SILVA et. al., 2008), principalmente em pacientes com insuficiência cardíaca (IC) e ou com doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC). Em situações normais, o aumento do trabalho ventilatório em indivíduos saudáveis pode requerer cerca de 10-15% do consumo de oxigênio corporal (CHIAPPA et. al., 2008). Broghi-Silva et al, (2008) têm evidenciado que a redução do trabalho ventilatório através de uma modalidade de ventilação não invasiva, ventilação proporcional assistida, durante o exercício em pacientes com DPOC e ICC tem gerado uma importante melhora na oxigenação muscular periférica e concomitantemente melhora na tolerância ao exercício. Portanto situações como disfunção da musculatura pode exacerbar mecanismos de redistribuição de fluxo sanguíneo para o diafragma, o que faz com que esses pacientes possam retornar ao ventilador mecânico em 24 h, traduzindo-se em fracasso do desmame da VM.

Aparentemente, todo esse processo de alterações do fluxo sanguíneo parece afetar o balanço hemodinâmico em função de uma resposta exagerada de vasoconstrição periférica mediada pelo sistema nervoso simpático, alterando substancialmente todo quadro clínico. Em adição, uma grande maioria de pacientes em VM apresenta umas importantes alterações no sistema nervoso autônomo, levando a uma redução da variabilidade da frequência cardíaca, em especial em pacientes com sepse (PONTET et. al., 2003). Portanto, a exposição crônica a VM com consequente déficit do fluxo sanguíneo para os músculos periféricos parece envolver uma combinação de alterações produzidas na vasculatura dos músculos esqueléticos e/ou importantes alterações no estímulo neuro-hormonal comprometendo substancialmente o quadro clínico do paciente.

Embora o exercício tenha sido usado para melhorar o estado clínico em pacientes na UTI (BOURDIN et al., 2010), existem poucos dados na literatura sobre estes efeitos em pacientes sob VM. Além disso, vários problemas relacionados com os efeitos de fisioterapia em indicadores clínicos e os parâmetros de stress oxidativo em pacientes expostos a VM permanecem sem resposta e merecem investigação adicional, por exemplo, 1), o tempo de exposição à VM tem uma relação com o dano oxidativo?; 2), que o método mais eficaz terapêutica para reduzir a duração em MV e para melhorar o estado clínico do paciente exposto ao VM?; 3) é possível minimizar o dano oxidativo sem mobilização precoce e fisioterapia?

### 1.1. Fisioterapia em UTI

Em pacientes internados em UTIs os efeitos da fisioterapia são potencialmente relevantes incluindo perda de fluidos, contribuindo para hipotensão postural e taquicardia, redução do volume sistólico, débito cardíaco e consumo de oxigênio (HUNG et. al., 1983; CONVERTINO et. al., 1997) respondendo positivamente em uma qualidade de vida melhor dos pacientes sob VM. Estudos recentes têm demonstrado que períodos longos em VM resultam em importantes alterações nas fibras musculares, marcadores inflamatórios e parâmetros metabólicos (NEEDHAM, 2008). Durante o repouso prolongado, pode ocorrer atrofia da musculatura esquelética por desuso. Além disso, mudanças das isoformas de miosina de fibras de contrações lentas para rápidas, alterações metabólicas dos ácidos graxos para glicose e síntese de proteínas também se encontra reduzida (FERRANDO et. al., 1996; SANDRI et. al., 2006).

Bailey *et al* (2007) publicou o primeiro estudo não controlado de rotina multidisciplinar com base em um protocolo de exercícios, realizado duas vezes ao dia, o qual reabilitou 103 pacientes ventilados mecanicamente. Os autores demonstraram que atividades como sentar e levantar e deambulação é facilmente executada pelos pacientes e segura naqueles pacientes em ventilação endotraqueal. Além disso, os autores demonstraram um benefício, onde 69% dos pacientes que deambulavam mais do que 30 m antes do protocolo conseguiram após o início do programa atingir uma distância de 65 m. Esses achados de segurança aparentemente já haviam sido demonstrados ao comparar a mobilidade precoce com um grupo controle, o qual reduziu o tempo de permanência na UTI (5,5 vs 6,9 dias;  $P < 0,05$ ) e hospitalar (11,2 vs. 14,5 dias;  $P = 0,006$ ) (MORRIS et. al., 2008).

Nessas condições observadas, os pacientes internados nessas unidades freqüentemente recebem tratamento com corticóides, que podem estar associado com a fraqueza muscular adquirida nas UTIs (DE JONGHE et. al., 2002; STEVENS et. al., 2007). Além disso, em alguns planos de tratamento para pacientes ventilados mecanicamente pode não freqüentemente receber fisioterapia ou terapia ocupacional. Em estudos de eficácia de fisioterapia, encontramos apenas 6-27% dos pacientes em ventilação mecânica que recebem alguma modalidade de fisioterapia (NEEDHAM et. al., 2007; MORRIS et. al., 2008). Naturalmente, o tratamento de fisioterapia ou terapia ocupacional tem sido freqüentemente aplicado após a sedação ser reduzida e após extubação. No entanto, a fisioterapia tem proporcionado uma melhora de qualidade de vida desses pacientes e melhora do prognóstico (ESTEBAN et. al., 1995; ESTEBAN et. al., 2000).

Nas últimas décadas, estudos em animais têm mostrado atrofia muscular e fraqueza muscular diafragmática em períodos curtos de ventilação mecânica controlada (~18 horas) (MCCOOL et. al., 2008). Até o momento, não está claro se esses efeitos também podem ser encontrados em humanos. Nesse sentido, Levine *et al* mostraram que pode existir atrofia muscular diafragmática em períodos longos expostos a ventilação mecânica (~18-69 horas). Os autores compararam tamanho de fibras musculares, os marcadores de estresse oxidativo e ativação de vias de degradação no músculo através de biópsia obtidos dos doadores e compararam estes achados com características semelhantes aos pacientes submetidos à cirurgia pulmonar que receberam apenas 2 a 3 horas de ventilação mecânica. Coerentes com estudos realizados em animais – o estudo de Levine revelou acentuada atrofia das fibras do diafragma, aumento do estresse oxidativo muscular e sistêmico, e ativação de vias de degradação.

Adicionalmente, a literatura tem fornecido dados de que outras técnicas de exercício tais como o uso de eletroestimulação em pacientes críticos tem gerado resposta satisfatória especialmente na tentativa de melhorar a força muscular (ROUTSI et. al., 2010). Nanas et al (2010) têm mostrado que o uso de eletroestimulação aplicado nos músculo vasto lateral, vasto medial e fibular longo de ambas as extremidades inferiores impediu o desenvolvimento da polineuropatia em pacientes criticamente doentes em comparação com os controles. Essa informação nos fornece subsídios para que possamos estar testando esse tipo de intervenção em pacientes em ventilação mecânica.

### 1.2. Estresse oxidativo e ventilação mecânica



O estresse oxidativo está relacionado a situações onde os mecanismos celulares pró-oxidantes (produção de ERO e ERN) superam os mecanismos de defesas incluindo os sistemas enzimáticos, sistemas de reparo e outros sistemas de defesa. É um estado em que há uma elevada produção de espécies reativas. Este estado está comumente ligado a fisiopatologia de diversas doenças dado os danos celulares como, por exemplo, peroxidação de lipídios, fragmentação de proteínas e ácidos nucleicos (HALLIWELL E GUTERIDGE, 2007). A regulação adaptativa dos sistemas de defesa pode proteger, parcialmente ou totalmente, a célula contra os danos oxidativos, mas pode também levar a danos teciduais e eventualmente a morte celular por necrose ou apoptose (VALKOM et al., 2007). Portanto, caso não haja nenhum mecanismo de defesa eficiente, esse estado pode trazer prejuízos significativos à saúde.

Um alvo clássico da ação dos RL em situação de estresse oxidativo são os ácidos graxos poliinsaturados presentes nas membranas celulares e em lipoproteínas. A oxidação desses ácidos graxos, lipoperoxidação geram intermediários que podem sofrer quebras formando hidrocarbonetos de cadeia curta (etano, pentano), aldeídos (como o malonaldeído, 4-hidroxinonenal), epóxidos e outros produtos altamente citotóxicos. Como resultado da lipoperoxidação as membranas sofrem alterações na fluidez e na permeabilidade, resultando em perda na homeostase e morte celular (MATSUO & KANEKO, 2001).

As proteínas também são alvos de ataque dos RL. A oxidação dos aminoácidos resulta na formação de grupos carbonilas, tióis oxidados, entre outras modificações que alteram a função normal da proteína (HALLIWELL E GUTERIDGE, 2007). Especificamente, os grupos carbonila são formados principalmente a partir da oxidação de alguns aminoácidos mediados por ERO, como lisina, argenina, prolina e treonina. Porém, reações secundárias de cadeias laterais de alguns aminoácidos (cisteína, lisina e histidina) com sub-produtos da lipoperoxidação e da oxidação de carboidratos, também foram grupos carbonil (DALLE-DONNE et al., 2003).

Está bem estabelecido que a oxidação de proteínas depende dos níveis de proteossomas intracelulares. De acordo com Dalle-Donne et al., (2003), os danos em proteínas mediados por RL e o acúmulo de proteínas oxidadas levam a um concomitante aumento na oxidação de proteínas reduzindo a degradação de proteínas oxidadas. Proteases intracelulares são responsáveis por 70% a 80% da degradação de proteínas após a oxidação e esse mecanismo é essencial para os sistemas de reparo e antioxidantes. Assim, o proteossoma constitui uma parte importante do sistema de defesa antioxidante.

Outro alvo muito importante dos RL é o DNA. De acordo com Halliwell e Guteridge (2007) a formação de RL próximo ao DNA pode resultar na oxidação de bases de pirimidina e purina, e quebras na fita. Dentre as bases, a guanina é altamente sensível à oxidação (formação de 8-hidroxideoxiguanosina, 8-OhdG) mediado por RL. Essas alterações no DNA têm sido associadas com processos mutagênicos e carcinogênicos (MATSUO & KANEKO, 2001).

A geração de ERO/ERN durante a VM tem provocado significativos danos à biomoléculas, principalmente no DNA e também na sinalização de células normais e os principais mecanismos envolvidos na produção dessas ERO tecidual estão diretamente relacionados com a oxidação de miofibrilas (ZERGEROGLU et al., 2003), proteólise diafragmática (BETTERS et. al., 2004; McCLUNG et. al., 2008) e ativação da xantina oxidase (XO) (WHIDDEN et al, 2009)

Evidência recente aponta para o estresse oxidativo como um importante estímulo para atrofia da musculatura (POWERS et. al., 2007). Os agentes oxidantes envolvidos são produzidos pelo músculo saudável em baixas taxas (REID, 2001; SMITH & REID, 2006), o que contribuem para o balanço redox na célula. Atividade oxidante aumenta durante períodos de imobilização no leito (KONDO et. al., 1993). Essa resposta parece ser significativa para evolução da atrofia muscular.

A permanência mais de duas semanas no leito é o suficiente para desenvolver alterações no estado redox decorrentes. A perda de massa muscular após inatividade resulta em diminuição do tamanho da fibras musculares (TRUONG et. al., 2009). As caspases (endoproteases que degradam proteínas e que pode induzir apoptose) podem ser ativados pela inatividade. Em modelos de imobilização aplicados em ratos com os membros inferiores suspensos por 28 dias, Lawler (2011) verificou uma diminuição de 45% na massa do músculo do sóleo. Isto foi associado com reduções substanciais na atividade de enzimas antioxidantes e aumento de danos oxidativos. Portanto, o estresse oxidativo está associado a atrofia por modificação dos processos redox-sensíveis nas fibras musculares e níveis sistêmicos.

A oxidação das fibras contráteis (actina e miosina) e proteólise do diafragma têm sido associadas a um aumento da disfunção diafragmática mediados por ERO (BETTERS *et al.*, 2004; MCCLUNG *et al.*, 2008). Whidden *et al* (2010) demonstraram que a atividade da XO contribui para estresse e os autores revelam que a inibição da XO é capaz de atenuar o estresse oxidativo gerado pela exposição à VM. Isso sugere que inibição farmacológica da atividade da XO poderia ser uma estratégia terapêutica a ser pensada na tentativa de retardar ou reduzir tanto o estresse oxidativo como a disfunção contrátil do diafragma induzido pela VM. Nesse sentido, o entendimento da ação das ERO especificamente provocados pela VM poderia ser útil para o desenvolvimento de medidas de prevenção para a fraqueza muscular respiratória durante aqueles casos de desmame difícil ou tempo prolongado à VM.

### 1.3. Alterações hemodinâmicas durante ventilação mecânica e desmame

O principal papel do sistema cardiocirculatório é de oferecer nutrientes e oxigênio para os tecidos, funcionando em conjunto para que ocorra um perfeito equilíbrio entre a oferta e a demanda de oxigênio. Em ventilação espontânea, durante a inspiração, a pressão intratorácica diminui, isto é, cria-se uma pressão negativa (subatmosférica), produzindo uma gradiente de pressão que facilita a entrada dos gases para os pulmões. Essa diminuição da pressão intratorácica também reflete no coração e grandes vasos, facilitando o retorno venoso e aumentando o débito cardíaco (TOBIN *et al.* 1986).

Na ventilação mecânica com pressão positiva ocorre alteração desses mecanismos, produzindo uma pressão intratorácica positiva na inspiração, proporcionando redução da pré-carga do ventrículo direito ou diminuição do retorno venoso e aumento da pós-carga do ventrículo direito ou da resistência vascular pulmonar (PINSKY, 2000). Portanto, a ventilação mecânica com pressão positiva reduz a pré-carga do ventrículo esquerdo (VE). Além disso, também reduz a pós-carga do ventrículo esquerdo (VE) por diminuição da pressão transmural ventricular, o que resulta numa importante redução na pós-carga e também no trabalho do ventrículo esquerdo (VALLVERDU *et al.*, 1998). Isso se torna relevante em pacientes cuja reserva cardíaca funcional é limítrofe ou prejudicada, pois, o retorno à ventilação espontânea pode aumentar a pré-carga cardíaca e a pós-carga do VE.

Estudos prévios (COSTA *et al.*, 2005; PARTHASARATHY *et al.*, 2007) têm demonstrado que a isquemia miocárdica pode contribuir significativamente para o fracasso do desmame (risco relativo 1.8 e 2.1 respectivamente). Costa *et al* (2005) detectaram maior ocorrência de alterações do segmento ST em pacientes cardiopatas quando comparados aos indivíduos não cardiopatas (64% vs 22%;  $p < 0,05$ ). No entanto não encontraram diferenças quanto à presença de arritmias cardíacas entre os grupos.

De um modo geral, essas alterações podem ser justificadas pela disfunção ventricular esquerda freqüentemente presente. Lemaire *et al.* (1988) detectaram presença de disfunção ventricular esquerda aguda após dez minutos de ventilação em tubo T, em pacientes com DPOC associada com doença cardíaca. Esses autores afirmam que pacientes com diagnóstico de disfunção ventricular podem desenvolver aumento na pressão de oclusão da artéria pulmonar e, às vezes, sofrerem diminuição do débito cardíaco durante a retirada da ventilação mecânica com pressão positiva, levando a falência do desmame.

Podemos ainda relatar como mecanismos o aumento da carga de trabalho dos músculos respiratórios (PINSKY, 2000) e aumento no consumo de oxigênio (BACKER *et al.*, 2000), durante a ventilação espontânea ou diminuição do suporte ventilatório, bem como a ansiedade e a liberação simpática (PINSKY, 2005). Esses fatores estão diretamente associados com aumento do consumo de oxigênio e da demanda cardíaca. Nessas circunstâncias, o VE não responde de forma adequada por apresentar disfunção diastólica, elevando a pressão diastólica final do VE, causando edema alveolar, intersticial e peribronquiolar, aumentando a resistência, causando alterações na relação ventilação/perfusão que provocam hipoxemia.

Backer *et al.* (2000) demonstraram que pacientes que obtiveram sucesso no desmame após cirurgia cardiovascular apresentam aumento significativo no consumo de oxigênio, no índice cardíaco e na extração de oxigênio na transição da ventilação mecânica para ventilação espontânea com tubo T, ao contrário daqueles que falham durante esse processo (JUBRAN *et al.*, 1999). Em estudo realizado por Frazier *et al.* (2000) em cães com função cardíaca normal e

com insuficiência cardíaca induzida por propanolol, observaram alterações hemodinâmicas no débito cardíaco e no volume sistólico durante o desmame com tubo T e CPAP, sem alterações significativas na pressão suporte. Nesse estudo, o aumento do débito cardíaco em ambos os grupos foi produzido por alterações no volume sistólico, sem alterações significativas na FC nos três modos de desmame. Entretanto, Teboul *et al.* (1986) observaram aumento significativo da FC durante desmame com tubo T, os quais sugeriram que essa resposta deva-se a uma descarga de catecolaminas durante a remoção da ventilação mecânica. Talvez, esse achado, possa estar associado a um aumento do tônus simpático, e possa interferir no processo de desmame.

#### **1.4. Eletroestimulação**

EMS envolve a aplicação de um corrente elétrica através de eletrodos colocados no pele sobre os músculos alvo, assim despolarizante neurónios motores e, por sua vez, induzir a contração do músculo esquelético (SPRUIT *et al.*, 2009).

A estimulação elétrica muscular (EMS) pode ser considerada uma alternativa ao exercício ativo para aqueles pacientes que não apresentam condições de promoverem contração muscular voluntariamente. Estes que não podem realizar exercícios ativos parecem beneficiar-se da EMS em termos de tolerância ao exercício, força muscular, e qualidade de vida (GEROVASIL *et al.*, 2009; ROUTSI *et al.*, 2010).

EENM é um método de estimulação elétrica para aumentar o desempenho do músculo e podem ser utilizados na prevenção e tratamento de atrofia muscular (SPRUIT *et al.*, 2009).

Em uma recente revisão sistemática de implementação do EMS na maioria dos ensaios clínicos controlados produziu melhoras significativas na força muscular, capacidade de exercício e estado de saúde de doenças específicas. O mais importante foi de que o uso da EMS mostrou ser eficaz contra o desenvolvimento da polineuropatia em pacientes criticamente doentes, associado a uma menor duração do desmame da ventilação mecânica (ROUTSI *et al.*, 2010). No entanto, não temos dados satisfatórios que indicam que esse tipo de terapia seja capaz de reduzir os níveis de oxidantes e a atrofia muscular em pacientes em ventilação mecânica.

#### **1.5 Mobilização Precoce**

Estes estudos demonstraram que atualmente há pouca participação na atividade inicial nos pacientes que estão recebendo ventilação mecânica em UTI. O descondicionamento pode ser independente da doença primária resultar em debilidade física quando os pacientes tentam retomar as atividades da vida diária. A mobilização precoce podem alterar este curso de fraqueza e descondicionamento (BAILEY *et al.*, 2009).

Mobilização precoce em UTIs através da manutenção da força muscular deve aumentar a taxa de sucesso do desmame, diminuir o tempo de permanência em UTI e internação hospitalar, e melhorar a qualidade de vida (BOURDIN *et al.*, 2010).

No entanto, mobilidade precoce na UTI tem demonstrado melhorar os resultados intermediários no âmbito hospitalar (BAILEY *et al.*, 2009).

## **2. OBJETIVOS**

**Geral:** avaliar os efeitos da mobilização precoce sobre os parâmetros clínicos e de estresse oxidativo sistêmico em pacientes sob ventilação mecânica.

**Específicos:**

1. Avaliar parâmetros clínicos de pacientes em ventilação mecânica após exposição ao exercício físico associado ou não a eletroestimulação.
2. Avaliar os danos oxidativos em lipídeos e proteínas em plasma de pacientes em ventilação mecânica após exposição a mobilização precoce associado ou não a eletroestimulação.

### 3. MATERIAIS E METODOS

#### 3.1. Amostra

Foram selecionados para o estudo todos os pacientes internados na Unidade de Terapia Intensiva do Hospital São José de Criciúma, Santa Catarina, Brasil, idade acima de 18 anos, ambos os sexos e pacientes que receberam ventilação mecânica invasiva por mais de 2 dias e permaneceram na UTI por pelo menos 5 dias. Foram excluídos do estudo pacientes com agitação, confusão, deficientes mentais, em estado de choque, definida como pressão arterial sistólica < 90 mmHg ou necessidade de vasopressores em curso; insuficiência respiratória persistente, definida como frequência respiratória de 35 respirações/min e/ou relação de  $\text{PaO}_2$  para fração inspirada de oxigênio ( $\text{F}_{\text{IO}_2}$ ) < 200 mmHg e / ou  $\text{PaCO}_2$  > 50mmHg e/ou pH < 7,30, terapia de substituição renal contínua, sedação intravenosa em curso, extubação programada, pressão intracraniana aumentada, com implante de marca-passos cardíacos, morte encefálica, com barreiras clínicas que não permitem a aplicação dos eletrodos (queimaduras na pele ou seja, e fraturas), degenerativas doenças neuromusculares, lesão medular e gravidez. Oitenta e seis pacientes foram selecionados e randomizados em 4 grupos: controle (cuidados usuais), n=24; exercício passivo, n=19; eletroestimulação, n=21; exercício passivo + eletroestimulação, n=22. Após analisados os critérios de exclusão permaneceram no estudo 40 pacientes, onde os grupos ficaram divididos assim: controle (cuidados usuais), n=12; exercício passivo, n=10; eletroestimulação, n=10; exercício passivo + eletroestimulação, n=08. Os familiares ou responsáveis pelos pacientes assinaram o termo de consentimento informado (Anexo) e o projeto foi aprovado pelo comitê de ética do Hospital São José sob protocolo 127/2010.

#### 3.2. Protocolos de Tratamento

Controle: Além dos cuidados usuais foi realizada a fisioterapia respiratória convencional (re-expansão pulmonar e aspiração orotraqueal) duas vezes ao dia durante todo o período que o paciente permaneceu na UTI.

Exercício Passivo: inclui mobilização passiva do paciente utilizando repetidos movimentos involuntários dos membros superiores e inferiores (flexão de joelho e quadril nos membros inferiores e elevação nos membros superiores). Foi realizada uma sessão por dia com duração de aproximadamente 20 a 30 minutos em três séries de 10 repetições/série.

Eletroestimulação: Antes do protocolo foi realizado a assepsia do local para fixação dos eletrodos. No caso de uma pele pilosa, a pele foi cuidadosamente raspada antes da aplicação. Após a limpeza e tricotomia (raspagem do pelo), eletrodos retangulares (90 × 50 mm) foram colocados sobre os pontos motores do músculo quadríceps de ambas as pernas. O estimulador (marca KW, fabricado pela Indústria de Tecnologia Eletrônica Ltda, Brasil) com 6 segundos de contração e 12 segundos de relaxamento a uma frequência de 2500 Hz. Os pacientes receberam sessões diárias com duração inicial de 20 minutos progredindo para alguns pacientes até 30 minutos, incluindo 5 minutos para aquecimento e 5 minutos para recuperação. As sessões prosseguiram até a extubação do paciente.

Eletroestimulação + Mobilização passiva: usaremos uma associação entre os protocolos anteriores. Foi realizado primeiramente a eletroestimulação como descrito acima. Após o término foi realizado mobilização passiva.

#### 3.3. Coleta dos dados clínicos

Os dados clínicos de gasometria, frequência cardíaca, frequência respiratória, pressão arterial, nível de hemoglobina e hematócrito foram coletados diariamente e anotados no prontuário do paciente.

#### 3.4. Coleta de sangue

Amostras de sangue foram coletadas de cada paciente por duas vezes, no início da aplicação dos protocolos (basal) e no final do tratamento. O sangue foi obtido em tubos de heparina por meio de punção venosa (veia antecubital). O plasma foi obtido por centrifugação de

amostras de sangue durante 10 min a 5000 rpm. As amostras foram armazenadas a  $-70^{\circ}\text{C}$  para posterior análises.

### 3.5 Parâmetros de dano oxidativo

Xilenol laranja: Este método detecta hidroperóxidos (ROOHs) que são os produtos da lipoperoxidação. Alíquotas do plasma (90  $\mu\text{L}$ ) foram transferidos para tubos específicos de 10  $\mu\text{L}$  de 10mM TPP em metanol foram adicionados nos frascos para reduzir ROOHs. Todos os tubos foram então agitados e incubados à temperatura ambiente durante 30 min antes da adição de 900  $\mu\text{L}$  de solução específica. Absorbância do sobrenadante foi medida a 560 nm usando um espectrofotômetro Ultraspec 2000 (Pharmacia Biotech, Uppsala, Suécia) conforme previamente descrito por Jiang et al (1991).

Sulfidril (conteúdo de tiol total): O teor total de tiol foi determinado utilizando o 5,5'-dithioibis (2-nitrobenzóico) (Sigma). A reação foi iniciada pela adição de 30  $\mu\text{L}$  de 10 mM de solução estoque de DTNB em PBS. As amostras de controle não incluem DTNB. Após 30 min de incubação à temperatura ambiente, a absorbância da amostra foi medida a 412 nm usando um espectrofotômetro Ultraspec 2000 (Pharmacia Biotech, Uppsala, Suécia). A quantidade de TNB formado foram calculados (equivalente à quantidade de grupos SH), utilizando a técnica Aksenov (Aksenov et al. 2001).

### 3.6. Determinação de proteínas totais

A quantidade de total de proteína para os ensaios danos oxidativos foram determinadas a partir da técnica descrita por Lowry et al. (1951). O conteúdo protéico foi determinado usando a albumina bovina como padrão. Quando o reagente Folin de fenol é adicionado, liga à proteína alterando a cor da solução (do amarelo para o azul escuro). A leitura é feita espectrofotometricamente 750 nm.

### 3.7. Tratamento estatístico

A análise estatística foi realizada usando SigmaStat 3,1 (SYSTAT, Point Richmond, CA, EUA) utilizando apenas as amostras que possuíam mais que 90% das variáveis analisadas (corte arbitrário). Desta forma, os grupos analisados ficaram assim constituídos: controle (cuidados usuais),  $n=12$ ; exercício passivo,  $n=10$ ; eletroestimulação,  $n=10$ ; exercício passivo + eletroestimulação,  $n=08$ . Realizamos Kolmogorov-Smirnov e teste de Levene para verificação da normalidade e variância, respectivamente. Os dados categóricos foram comparados utilizando o teste qui-quadrado (identificado por  $\chi^2$ ). Os dados contínuos foi comparado com um ANOVA (identificado pelo valor F) ou teste de Kruskal-Wallis um ANOVA (identificado pelo valor H). ANOVAs paramétricos foram seguidos por Holm-Sidak teste e ANOVAs não-paramétricos foram seguidos pelo teste de Tukey quando os tamanhos de amostra entre os grupos foram iguais ou teste de Dunn quando os tamanhos da amostra entre os grupos foram desiguais (por exemplo, dados faltantes). Regressões lineares foram utilizados para análises de danos oxidativos. A significância estatística foi considerada para  $p < 0,05$ .

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Novas tecnologias em cuidados intensivos e ventilação mecânica levam a longo prazo, a sobrevida de pacientes criticamente doentes. Cada ano, mais de 1 milhão de pacientes necessitam de ventilação mecânica são internados em unidades de terapia intensiva (UTI) nos Estados Unidos. Além de suas comorbidades, os pacientes que requerem ventilação mecânica têm muitas barreiras à mobilidade. (PERME & CHANDRASHEKAR, 2009).

Avanços na gestão da ventilação mecânica são necessários visando melhores resultados no que diz respeito à redução no tempo e taxas de sobrevivência. Isso porque embora ventilação mecânica seja uma medida de salvamento, quanto mais prolongada for o tempo de permanência sob esta situação, maiores são as chances de complicações, como lesões traqueais, infecção, insuficiência cardiovascular e respiratória (POWERS et al., 2009). Por exemplo, a fraqueza muscular é uma complicação frequente e está associada com a gravidade da doença tanto quanto ao período de mobilização do paciente (POWERS et al., 2009). Os médicos que trabalham na UTI costumam se concentrar no tratamento circulatório, respiratório e da função renal para assegurar sobrevida do paciente. Por conseguinte, a maioria dos pacientes sobre ventilação mecânica recebe sedativos e analgésicos para reduzir o estresse e consumo de oxigênio, como sempre, esta abordagem pode resultar em longos períodos de inconsciência e imobilidade (SCHWEICKERT et al., 2009). Desta forma, medidas terapêuticas que possam contribuir para reduzir os efeitos deletérios provocados pela ventilação mecânica parecem ser cruciais e necessárias em UTIs. Neste sentido, com o objetivo de avaliar os efeitos da mobilização precoce sobre os parâmetros clínicos e de estresse oxidativo sistêmico em pacientes sob VM, esse estudo recorreu a dois diferentes protocolos, o exercício passivo e a eletroestimulação.

Dados basais e característica dos sujeitos envolvidos no estudo são apresentados na Tabela 1. Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos, embora a morte durante o protocolo apresentou uma associação limítrofe ( $F = 7,296$ ,  $p = 0,048$ ). Esses resultados estão possivelmente associados com a saúde do paciente. As causas que levam os pacientes a VM são as mais diversas possíveis e com isso o desfecho também são diversos. A interrupção da VM causada pela morte do paciente ocorre devido a gravidade da doença e não necessariamente pelos protocolos de intervenção terapêutica. 33,33% entre os indivíduos submetidos ao protocolo 1 foram mulheres, enquanto uma proporção mais baixa (12,50%) do sexo feminino foram incluídos no protocolo 4.

Parâmetros	Protocolo 1	Protocolo 2	Protocolo 3	Protocolo 4	Estatística	
	Média (DP) <sup>n</sup> ou %	Média (DP) <sup>n</sup> ou %	Média (DP) <sup>n</sup> ou %	Média (DP) <sup>n</sup> ou %	F ou $\chi^2$	p
Idade (anos)	56,42 (10,75) <sup>12</sup>	51,7 (16,76) <sup>10</sup>	57,6 (14,59) <sup>10</sup>	49,25 (19,57) <sup>8</sup>	0,619	0,607
Mulheres (%)	33,33	30,00	20,00	12,50	1,378	0,711
Escore Glasgow	7,34 (1,23) <sup>3</sup>	7,15 (3,19) <sup>1</sup>	6,25 (2,13) <sup>8</sup>	7 (3,17) <sup>5</sup>	0,309	0,818
Escore Rass	-3,84 (1,61) <sup>5</sup>	-3,4 (2,31) <sup>5</sup>	-3 (2,92) <sup>5</sup>	-3,6 (1,68) <sup>5</sup>	0,143	0,933
Vent. Mec (dias)	9,84 (4,97) <sup>12</sup>	10,3 (7,61) <sup>10</sup>	14,9 (7,51) <sup>10</sup>	14 (9,08) <sup>8</sup>	1,288	0,293
Duração (dias)	7,09 (4,93) <sup>12</sup>	8,6 (8,89) <sup>10</sup>	10,7 (6,9) <sup>10</sup>	9,38 (7,88) <sup>8</sup>	0,486	0,694
Morte (%)	33,33	0,00	40,00	0,00	7,296	<b>0,048*</b>

Tabela 1: Dados basais e características dos sujeitos envolvidos nos estudos. Os dados são apresentados em média e desvio padrão ou em percentual. Protocolo 1=tratamento padrão; protocolo 2=exercício passivo; protocolo 3=eletroestimulação; protocolo 4 = exercício passivo + eletroestimulação; \* $p < 0.05$ .

O tempo médio de duração em VM é uma informação importante quando da aplicação de protocolos de intervenção para acelerar o desmame com desfecho positivo. No presente estudo não foi observada diferenças significativas nesse parâmetro. Entretanto, um estudo realizado por Ely e colaboradores (1996) mostraram resultados similares e relatam que pacientes sob VM

expostos a intervenção de fisioterapia respiratória diminuíram o tempo de VM em 1,5 dia e reduziram a morbidade dos pacientes. A média de duração da VM no grupo intervenção foi de 4,5 dias e no grupo controle foi de 6 dias ( $p = 0.003$ ). Kollef et al., (1997), mostraram que o grupo sob intervenção fisioterapêutica reduziram a duração da VM e aumentaram a taxa de sucesso no desmame. O índice de sucesso no desmame foi significativamente maior para os pacientes do grupo intervenção (*odds ratio* 1.31; 95% IC 1.15 a 1.50;  $p = 0.039$ ). Mas, a mortalidade hospitalar foi similar entre os grupos avaliados (22.3% vs. 23.6%).

Em relação aos dados clínicos basais, não houve diferenças significativas entre os grupos (Tabela 2), como também na última observação realizada (LOCF) (Tabela 3). Não foi observado importantes resultados significativos após os indivíduos serem submetidos a qualquer um dos quatro protocolos.

Embora nossos resultados não mostraram mudanças significativas nas variáveis clínicas analisadas, possivelmente pelas grandes diferenças entre os sujeitos tanto do ponto de vista do tempo em VM quanto da natureza das doenças que os levaram a VM, a realização de fisioterapia motora como a eletroestimulação e mobilização passiva (exercício passivo), em pacientes críticos de acordo com Pinheiro e Christoforetti, (2012) representa uma intervenção segura, viável e bem tolerada como também contribui substancialmente para a melhora da força muscular. Estudos que utilizaram a eletroestimulação, por exemplo, obtiveram resultados satisfatórios pacientes mais crônicos e debilitados, visando ao aumento da massa muscular (ZANOTTI et al., 2003; GEROVASILIS et al., 2009). Zanotti et al. (2009) compararam um protocolo de exercícios ativos apendiculares à eletroestimulação, em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica grave, acamados e sob VM prolongada, e constataram que o grupo que recebeu a eletroestimulação conseguiu um aumento significativamente maior da força muscular quando comparado a participantes do grupo controle. Da mesma forma, Chiang e colaboradores (2006) constataram que houve aumento significativo da força muscular de membros e da função respiratória nos pacientes em VM submetidos ao exercício passivo.

Parâmetros	Protocolo 1	Protocolo 2	Protocolo 3	Protocolo 4	Estatística	
	Média (DP) <sup>n</sup> ou %	Média (DP) <sup>n</sup> ou %	Média (DP) <sup>n</sup> ou %	Média (DP) <sup>n</sup> ou %	F ou $\chi^2$	p
Bicarbonato	22,2 (6,22) <sup>12</sup>	25,69 (5,09) <sup>10</sup>	23,58 (4,9) <sup>10</sup>	24,98 (4,21) <sup>8</sup>	0,929	0,437
pH	7,36 (0,13) <sup>12</sup>	7,38 (0,09) <sup>10</sup>	7,38 (0,09) <sup>10</sup>	7,4 (0,08) <sup>8</sup>	0,353	0,787
PCO <sub>2</sub>	41,63 (17,16) <sup>12</sup>	44,39 (9,45) <sup>10</sup>	40,75 (7,62) <sup>10</sup>	41,25 (8,93) <sup>8</sup>	0,185	0,906
PO <sub>2</sub>	99,58 (39,74) <sup>12</sup>	125,25 (48,88) <sup>10</sup>	108,68 (46,55) <sup>10</sup>	94,93 (53,56) <sup>8</sup>	0,793	0,506
SO <sub>2</sub>	94,13 (6,49) <sup>12</sup>	97,04 (3,83) <sup>10</sup>	94,85 (7,87) <sup>10</sup>	93,72 (6,67) <sup>8</sup>	0,527	0,667
Hct	32,65 (7,56) <sup>12</sup>	31,13 (7,16) <sup>10</sup>	30,93 (5,31) <sup>10</sup>	27,12 (3,92) <sup>7</sup>	1,118	0,355
Hgb	10,65 (2,29) <sup>12</sup>	10,16 (2,11) <sup>10</sup>	10,23 (1,77) <sup>10</sup>	8,6 (0,96) <sup>7</sup>	1,737	0,177
FC	91,92 (17,22) <sup>12</sup>	80,7 (21,6) <sup>10</sup>	91,5 (19,93) <sup>10</sup>	82,38 (16,71) <sup>8</sup>	0,980	0,413
FR	16,09 (6,15) <sup>12</sup>	17,8 (8,02) <sup>10</sup>	17,2 (3,77) <sup>10</sup>	16,25 (2,5) <sup>8</sup>	0,208	0,890
PAS	131,09 (23,5) <sup>12</sup>	137 (25,19) <sup>10</sup>	127,4 (31,18) <sup>10</sup>	134,13 (28,07) <sup>8</sup>	0,233	0,873
PAD	74,25 (23) <sup>12</sup>	77,5 (15,48) <sup>10</sup>	70,9 (18,24) <sup>10</sup>	76,25 (16,1) <sup>8</sup>	0,229	0,875

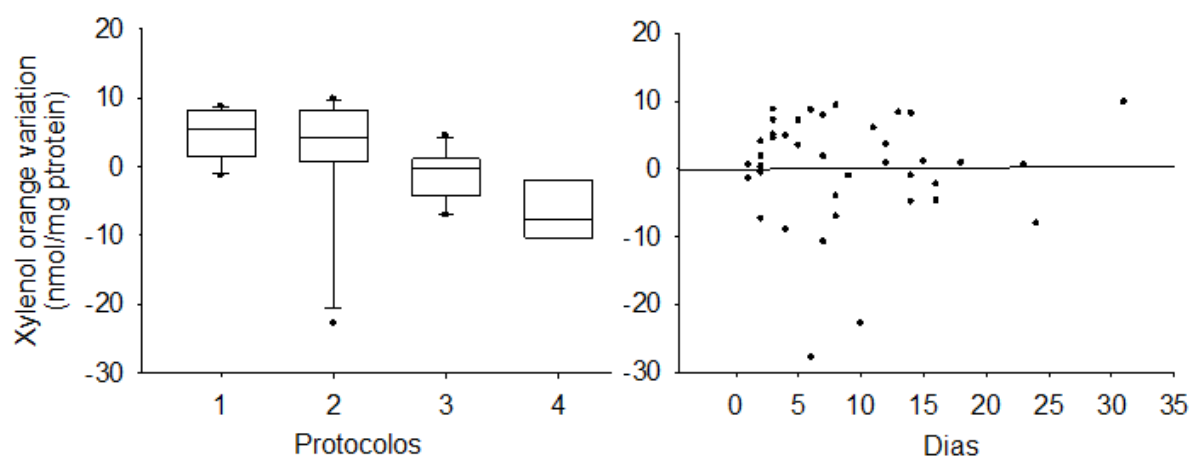
Tabela 2: Dados clínicos basais dos sujeitos envolvidos no estudo. Protocolo 1=tratamento padrão; protocolo 2=exercício passivo; protocolo 3=eletroestimulação; protocolo 4 = exercício passivo + eletroestimulação;  $p < 0.05$ .

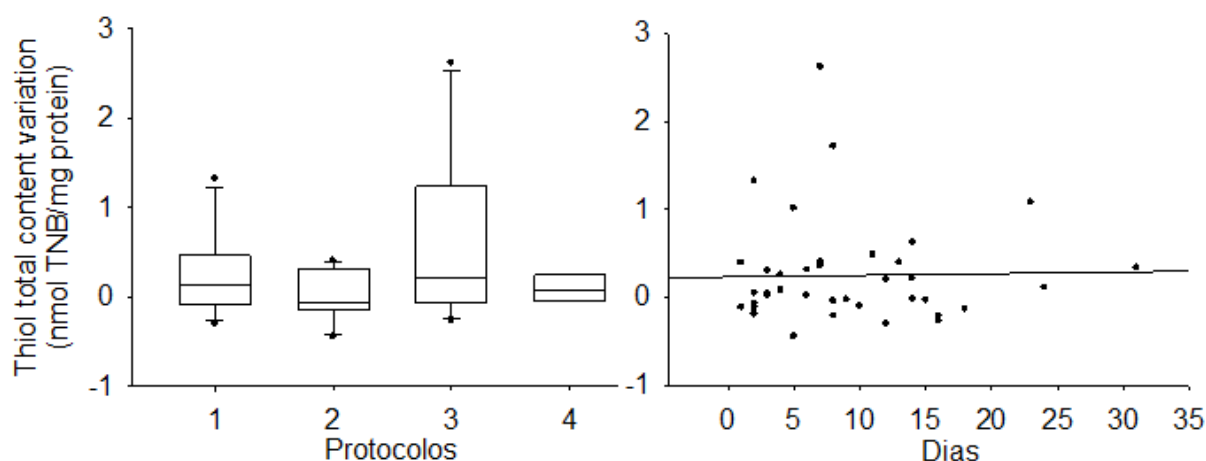


Parâmetros	Protocolo 1	Protocolo 2	Protocolo 3	Protocolo 4	Estatística	
	Média (DP) <sup>n</sup> ou %	Média (DP) <sup>n</sup> ou %	Média (DP) <sup>n</sup> ou %	Média (DP) <sup>n</sup> ou %	F	p
Bicarbonato	25,55 (8,21) <sup>12</sup>	28,51 (4,87) <sup>10</sup>	24,33 (7,32) <sup>10</sup>	25,58 (5,49) <sup>8</sup>	0,691	0,564
pH	7,41 (0,11) <sup>12</sup>	7,41 (0,08) <sup>10</sup>	7,34 (0,15) <sup>10</sup>	7,39 (0,08) <sup>8</sup>	1,144	0,345
PCO <sub>2</sub>	41,24 (12,46) <sup>12</sup>	45,54 (9,78) <sup>10</sup>	46,3 (13,86) <sup>10</sup>	44,7 (18,12) <sup>8</sup>	0,309	0,819
PO <sub>2</sub>	110,87 (37,85) <sup>12</sup>	99,2 (36,3) <sup>10</sup>	103,67 (37,42) <sup>10</sup>	77,54 (35,53) <sup>8</sup>	1,366	0,269
SO <sub>2</sub>	97,11 (2,3) <sup>12</sup>	95,69 (5,19) <sup>10</sup>	93,45 (8,77) <sup>10</sup>	88,73 (12,72) <sup>8</sup>	2,086	0,119
Hct	31,34 (6,43) <sup>12</sup>	30,58 (7,67) <sup>10</sup>	27,98 (5,36) <sup>10</sup>	27,35 (4,12) <sup>7</sup>	0,935	0,434
Hgb	10,2 (2,14) <sup>12</sup>	9,88 (2,37) <sup>10</sup>	9,15 (1,96) <sup>10</sup>	8,42 (1,15) <sup>7</sup>	1,370	0,268
FC	84,67 (21,03) <sup>12</sup>	91,6 (22,72) <sup>10</sup>	91,8 (16,52) <sup>10</sup>	95,88 (16,05) <sup>8</sup>	0,583	0,630
FR	21,42 (3,48) <sup>12</sup>	23,4 (7,83) <sup>10</sup>	21,7 (4,91) <sup>10</sup>	22,88 (6,11) <sup>8</sup>	0,286	0,835
PAS	149,25 (31,04) <sup>12</sup>	155 (26,24) <sup>10</sup>	129,8 (24,16) <sup>10</sup>	139,63 (15,11) <sup>8</sup>	1,884	0,150
PAD	84,5 (18,81) <sup>12</sup>	86 (22,81) <sup>10</sup>	71,5 (14,31) <sup>10</sup>	78,5 (10,16) <sup>8</sup>	1,440	0,247

Tabela 3: Última observação realizada (LCOF) dos dados clínicos dos sujeitos envolvidos no estudo. Protocolo 1=tratamento padrão; protocolo 2=exercício passivo; protocolo 3=eletroestimulação; protocolo 4 = exercício passivo + eletroestimulação;  $p < 0.05$ .

A geração de ERO durante a VM tem provocado significativos danos á biomoléculas. Os principais mecanismos envolvidos na produção dessas ERO tecidual estão diretamente relacionados com a oxidação de miofibrilas (ZERGEROGLU et al., 2003), proteólise diafragmática (BETTERS et. al., 2004; McCLUNG et. al., 2008) e ativação da xantina oxidase (XO) (WHIDDEN et al, 2009). Truong e colaboradores (2009) sugerem que a permanência mais de duas semanas no leito é o suficiente para desenvolver alterações no estado redox levando a danos oxidativos. Embora, o tempo de permanência no presente estudo foi inferior a duas semanas (tabela 1), danos oxidativos foram observados em todos os grupos, provavelmente, esses resultados são decorrentes da própria condição do paciente e não necessariamente do tempo em VM. Não foram observadas diferenças significativas na variação do conteúdo total de tiol em níveis basais ( $H = 2,904$ ,  $p = 0,406$ ), a variação xilenol foi significativamente observada entre os grupos ( $H = 19,521$ ,  $p = 0,0002$ ) (Figura 1). Análise post hoc indicaram diferenças significativas entre o protocolo 1 e 4 ( $q = 3,912$ ) em lipoperoxidação, bem como nos protocolos 1 e 3 ( $q = 3,430$ ) em tióis totais. Embora esperado, a variação observada no conteúdo xilenol e sulfidril não possui correlação significativa com o tempo de exposição em VM ( $p = 0,943$ ).





Variação no xilenol e conteúdo total de tióis (LOCF - baseline): Normalidade  $p < 0,001$  por isso foi corrido Kruskal Wallis ANOVA cujo resultado é  $H = 19,521$  e  $p = 0,0002$ . O post hoc utilizado foi Dunn por não termos grupos com o mesmo número de amostra e este teste mostrou diferenças entre o grupo 1 e 4 ( $q = 3,912$ ) em lipoperoxidação além de diferença entre o grupo 1 e 3 ( $q = 3,430$ ) em conteúdo total de tióis.

Os resultados sugerem um efeito positivo da eletroestimulação realizada isoladamente contra os danos oxidativos em lipídios e proteínas respectivamente. Em recente trabalho de Mazullo Filho e colaboradores (2012) pacientes em VM durante um período similar ao nosso estudo também apresentaram níveis de lipoperoxidação (TBARS) elevados. Os autores revelam que esses dados não são consistentes na literatura, no entanto, estudos similares em humanos e em modelos animais sugerem a atividade metabólica elevada como também a presente disfunção endotelial vascular em pacientes sob VM (LANDMESSER et al., 2002) podem ser fatores determinantes para os danos oxidativos sistêmicos observados.

Estudos sugerem que a atrofia muscular induzida pela VM, em particular atrofia diafragmática, aumenta o estresse oxidativo sistêmico e tecidual e isso aumenta a degradação da proteínas musculares (POWERS et al., 2009). Evidências da associação do estresse oxidativo com o músculo de pacientes sob VM é indicada por uma concentração de 23% inferior de glutathiona no diafragma pacientes com morte encefálica após VM em relação ao controle (LEVINE et al., 2008). As proteínas moderadamente oxidadas são sensíveis ao ataque proteolítico pela via de proteassoma de degradação da proteína o que pode resultar em atrofia da musculatura esquelética, em particular do diafragma durante a VM prolongada (ZERGEROGLU et al., 2003). Adicionalmente, a possibilidade de que a modificação oxidativa de proteínas de membrana contribui para o déficit de força difragmática induzido pela VM está bem estabelecido o essa alteração do estado redox pode modificar várias proteínas associadas com acoplamento excitação-contração e contribuir para a redução na produção de força muscular (POWERS et al., 2009). Portanto, dano oxidativo mesmo sistêmico pode ter implicações importantes no estado de saúde do paciente em VM.

## **5. CONCLUSÃO**

A inexistência de diferença estatisticamente significativa pode não refletir a ausência de diferença entre os protocolos. Entretanto, existem evidências de que a rotinas terapêuticas que aumentam a atividade muscular auxiliam na recuperação do paciente sob VM e contribuem para redução dos danos oxidativos. O tamanho amostral utilizado nesse estudo não atinge poder estatístico suficientemente alto para excluir a chance de falsos negativos. Logo, sugerem-se estudos futuros com maior número amostral e controle das variáveis intervenientes garantindo uma melhor estratificação dos sujeitos.

## REFERENCIAS

- Aksenov MY, Markesbery WR. **Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease.** Neurosc Letters. 2001;302:141-5.
- Anzueto A, Peters JI, Tobin MJ, de los Santos R, Seidenfeld JJ, Moore G, Cox WJ, Coalson JJ. **Effects of prolonged controlled mechanical ventilation on diaphragmatic function in healthy adult baboons.** Crit Care Med 1997; 25: 1187–1190.
- Backer D, El Haddad P, Preiser JC, Vincent JL. **Hemodynamic responses to successful weaning from mechanical ventilation after cardiovascular surgery.** Int Care Med 2000; 26:1201-1206.
- Bailey PR, Thomsen GE, Vicki JS, Blair R, Jewkes J, Bezdijan L, Veale RN, Rodriguez L, Hopkins RO. **Early activity is feasible and safe in respiratory failure patients.** Crit Care Med 2007; 35:139-145.
- Bailey PR, Miller III R, Clemmer T. **Culture of early mobility in mechanically ventilated patients.** Crit Care Med 2009; 37: 429-435.
- Bettters, J. L.; Criswell, D. S.; Shanely, R. A.; Van Gammeren, D.; Falk, D.; Deruisseau, K. C.; Deering, M.; Yimlamai, T.; Powers, S. K. **Trolox attenuates mechanical ventilation-induced diaphragmatic dysfunction and proteolysis.** Am. J. Respir. Crit. Care Med 2004; 170:1179–1184.
- Borghi-Silva A, Oliveira CC, Carrascosa C, Maia J, Berton DC, Queiroga F Jr, Ferreira EM, Almeida DR, Nery LE, Neder JA. **Respiratory muscle unloading improves leg muscle oxygenation during exercise in patients with COPD.** Thorax 2008; 63:910-5.
- Bourdin G, Barbier J, Burle JF, Durante G, Passant S, Vincent B, Badet M, Bayle F, Richard JC, Guérin C. **The Feasibility of Early Physical Activity in Intensive Care Unit Patients: A Prospective Observational One-Center Study.** Respiratory Care ; 2010; 55: 400-407.
- Chevrolet J. **Difficult weaning from mechanical ventilation.** Lung 168, Suppl: 829–832, 1990.
- Chiang LL, Wang LY, Wu CP, Wu HD, Wu YT. **Effects of physical training on functional status in patients with prolonged mechanical ventilation.** Phys Ther. 2006;86(9):1271-81.
- Chiappa GR, Roseguini BT, Vieira PJC, Alves CN, Tavares A, Winkelmann ER, Ferlin EL, Stein R, and Ribeiro JP. **Inspiratory Muscle Training Improves Blood Flow to Resting and Exercise Limbs in Patients with Chronic Heart Failure.** J Am Coll Cardiol 2008; 51:1663-71.
- Convertino VA, Bloomfield SA, Greenleaf JE. **An overview of the issues: physiological effects of bed rest and restricted physical activity.** Med Sci Sports Exerc. 1997; 29(2):187-190.
- Costa DA, Rieder MM, and Vieira RS. **Weaning from mechanical ventilation by using pressure support or T-tube ventilation. Comparison between patients with and without heart disease.** Arq Bras Cardiol 2005; 85(1):32-38.
- Dalle-Donne I, Giustarini D, Colombo R, Rossi R, Milzani A. **Protein carbonylation in human diseases.** Science Direct 2003; 9, (4): 169–176.

De Jonghe B, Sharshar T, Lefaucheur JP, Authier F J; Zaleski I D; Boussarsar M; Cerf C; Renaud E; Mesrati F; Carlet J; Raphaël J; Outin H; Bastuji-Garin S. **Paresis acquired in the intensive care unit: a prospective multicenter study.** *Jama* 2002; 288(22):2859-2867.

De Jonghe B, Bastuji-Garin S, Durand MC, Malissin I, Rodrigues P, Cerf C, Outin H, Sharshar T: **Respiratory weakness is associated with limb weakness and delayed weaning in critical illness.** *Crit Care Med* 2007, 35:2007-2015.

Ely EW, Baker AM, Dunagan DP, Burke HL, Smith AC, Kelly PT. **Effect on the duration of mechanical ventilation of identifying patients capable of breathing spontaneously.** *N Engl J Med.* 1996;335(25):1864-9.

Ely EW, Meade MO, Haponik EF, Kollef MH, Cook DJ, Guyatt GH. **Mechanical ventilator weaning protocols driven by nonphysician health-care professionals: evidence-based clinical practice guidelines.** *Chest.* 2001;120(Suppl6):454S-63S

Esteban A, Alia I, Ibanez J, Benito S, Tobin MJ. **Modes of mechanical ventilation and weaning. A national survey of Spanish hospitals. The Spanish Lung Failure Collaborative Group.** *Chest* 1994; 106: 1188–1193.

Esteban A, Anzueto A, Alia I, Gordo F, Apezteguia C, Palizas F, Cide D, Goldwaser R, Soto L, Buggedo G, Rodrigo C, Pimentel J, Raimondi G, Tobin MJ. **How is mechanical ventilation employed in the intensive care unit? An international utilization review.** *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1450–1458.

Esteban A, Frutos F, Tobin M, Alía I, Solsona J, Valverde V, Fernández R, de la Cal M, Benito S, Tomás R, Carriedo D, Macías S, Blanco J. **A comparison of four methods of weaning patients from mechanical ventilation.** *N Engl J Med* 1995; 332:345-350.

Ferrando AA, Lane HW, Stuart CA, Davis-Street J, Wolfe RR. **Prolonged bed rest decreases skeletal muscle and whole body protein synthesis.** *AmJ Physiol* 1996; 270(4 pt 1):627-E633.

Frazier S, Stone K, Schertel E, Moser D, Pratt J. **A comparison of hemodynamic changes during the transition from mechanical ventilation to T-piece, pressure support, and continuous positive airway pressure in canines.** *Biol Res Nurs* 2000; 1:253-264.

Gerovasili V, Stefanidis K, Vitzilaios K, Eleftherios K, Politis P, Koroneos A, Chatzimichail A, Routsis C, Roussos C, Nanas S. **Electrical muscle stimulation preserves the muscle mass of critically ill patients: a randomized study.** *Critical Care* 2009, 13: 1-8.

Halliwell B, Gutteridge JMC. **Free Radical in Biology and Medicine.** 2nd ed. Oxford: University Press. 2007.

Harrison R. **Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now?** *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 774–797.

Hung J, Goldwater D, Convertino VA, McKillop JH, Goris ML, DeBusk RF. **Mechanisms for decreased exercise capacity after bed rest in normal middleaged men.** *Am J Cardiol* 1983; 51(2):344-348.

Jiang Y; Woollard ACS; Wolff SP. **Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe+2 in the presence of xilenol orange.** Comparison with the TBA assay and an Iodometric method. *Lipids* 1991;26:853-856.

Jubran A, Mathru M, Dries D, Tobin MJ. **Continuous recordings of mixed venous oxygen saturation during weaning from mechanical ventilation and the ramifications thereof.** Am J Respir Crit Care Med 1999; 158:1763-1769.

Kollef MH, Shapiro SD, Silver P, St John RE, Prentice D, Sauer S. **A randomized, controlled trial of protocol-directed versus physician-directed weaning from mechanical ventilation.** Crit Care Med. 1997;25(4):567-74.

Kondo, H., Kodama, J., Kishibe, T. and Itokawa, Y. (1993). **Oxidative stress during recovery from muscle atrophy.** FEBS Lett. 1993; 326, 189-191.

Landmesser U, Spiekermann S, Dikalov S, Tatge H, Wilke R, Kohler C, Harrison DG, Hornig B, Drexler H. **Vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: role of xanthine-oxidase and extracellular superoxide dismutase.** Circulation. 2002 Dec 10;106(24):3073-8.

Lawler JM. **Exacerbation of pathology by oxidative stress in respiratory and locomotor muscles with Duchenne muscular dystrophy.** J Physiol. 2011;589(Pt 9):2161-70.

Lemaire F, Teboul JL, Cinotti L, Giotto G, Abrouk F, Steg G, Macquin-Mavier I, Zapol WM. **Acute left ventricular dysfunction during unsuccessful weaning from mechanical ventilation.** Anesthesiology 1988; 69:171-179.

Levine S, Nguyen T, Taylor N, Friscia ME, Budak MT, Rothenberg P. **Rapid disuse atrophy of diaphragm fibers in mechanically ventilated humans.** N Engl J Med. 2008;358:1327–35.

Lowry O, Rosebrough N, Farr L, Randall R. **Protein measurement with the folin phenol reagent.** Received for publication, May 28, 1951.

Maes, K.; Testelmans, D.; Cadot, P.; Deruisseau, K. C.; Powers, S.; Decramer, M.; Gayan-Ramirez, G. **Effects of acute administration of corticosteroids during mechanical ventilation on rat diaphragm.** Am. J. Respir. Crit. Care Med 2008; 178:1219–1226.

Matsuo M, Kaneko T. **The chemistry of reactive oxygen species and related free radicals.** In: Radák Z, editor. Free Radicals in Exercise and Aging Champaign: Human Kinetics. 2003; 1p. 1-33.

Mazullo Filho JBR, Bona S, Rosa DP, Silva FG, Forgiarini Junior LA, Dias S, Marroni NP. **Os efeitos da ventilação mecânica no estresse oxidativo.** Rev. bras. ter. intensiva 2012, 24: 23-29.

McClung JM, Whidden MA, Kavazis AN, Falk DJ, Deruisseau KC, Powers SK. **Redox regulation of diaphragm proteolysis during mechanical ventilation.** Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 2008; 294: R1608–R1617.

Morris PE, Goad A, Thompson C, Taylor K, Harry B, Passmore L, Ross A, Anderson L, Baker S, Sanchez M, Penley L, Howard A, Dixon L, Leach S, Small R, Hite RD, Haponik E. **Early intensive care unit mobility therapy in the treatment of acute respiratory failure.** Crit Care Med 2008; 36(8):2238-2243.

Muller, F. L.; Liu, Y.; Van Remmen, H. **Complex III releases superoxide to both sides of the inner mitochondrial membrane.** J. Biol. Chem 2004; 279:49064–49073.

Needham DM. **Mobilizing patients in the intensive care unit improving neuromuscular weakness and physical function.** Jama 2008; 300:1685-1690.

Needham DM, Wang W, Desai SV, Mendez-Tellez PA, Dennison CR, Sevransky J, Shanholtz C, Ciesla N, Spillman K, Pronovost PJ. **Intensive care unit exposures for long-term outcomes research: development and description of exposures for 150 patients with acute lung injury.** J Crit Care 2007; 22(4):275-284.

Parthasarathy S, Jubran A, Laghi F, Tobin MJ. **Sternomastoid, rib-cage and expiratory muscle activity during weaning failure.** J Appl Physiol 2007; Mar 29 [Epub ahead of print].

Perme C, Chandrashekar R. **Early Mobility and Walking Program for Patients in Intensive Care Units: Creating a Standard of Care.** Am J Crit Care. 2009; 18: 212-221.

Pinheiro AR, Christofoletti, G. **Motor physical therapy in hospitalized patients in an intensive care unit: a systematic review.** Rev. bras. ter. intensiva [online]. 2012, vol.24, n.2, pp. 188-196.

Pinsky MR. **Breathing as exercise:** the cardiovascular response to weaning from mechanical ventilation. Int Care Med 2000; 26:1164-1166.

Pinsky MR. **Cardiovascular issues in respiratory care.** Chest 2005; 128:592s-597s.

Pontet J, Contreras P, Curbelo A, Medina J, Noveri S, Bentancourt S, Migliaro E. **Heart rate variability as early marker of multiple organ dysfunction syndrome in septic patients.** J Crit Care 2003; 18: 156-163.

Powers SK, Kavazis AN, McClung JM. **Oxidative stress and disuse muscle atrophy.** J Appl Physiol 2007; 102: 2389–2397.

Powers S, Kavazis A, Levine S. **Prolonged mechanical ventilation alters diaphragmatic structure and function.** Crit Care Med 2009; 37 (10): 347-353.

Reid, MB. **Redox modulation of skeletal muscle contraction: what we know and what we don't.** J. Appl. Physiol., 2001; 90, 724–731.

Routsi C, Gerovasili V, Vasileiadis I, Karatzanos E, Pitsolis T, Tripodaki ES, Markaki V, Zervakis D, Nanas S. **Electrical muscle stimulation prevents critical illness polyneuromyopathy: a randomized parallel intervention trial.** Critical Care 2010; 14: 1-23

Sandri M, Lin J, Handschin C, Yang W, Arany ZP, Lecker SH, Goldberg AL, Spiegelman BM. **PGC-1alpha protects skeletal muscle from atrophy by suppressing FoxO3 action and atrophy-specific gene transcription.** Proc Natl Acad Sci U S A 2006; 103(44):16260-16265.

Schettino G P P; Reis M A S; Galas F; Park M; Franca S; Okamoto V. **III Consenso Brasileiro de Ventilação Mecânica.** J Bras Pneumol. 2007; 33: S92-S105.

Schweickert W, Pohlman M, Pohlman A, Nigos C, Pawlik A, Esbrook C, Spears L, Miller M, Franczyk M, Deprizio D, Schmidt G, Bowman A, Barr,R, McCallister K, Hall J, Kress J. **Early physical and occupational therapy in mechanically ventilated, critically ill patients: a randomised controlled trial.** Lancet 2009; 373: 1874–82.

Schweickert WD, Kress JP. **Implementing early mobilization interventions in mechanically ventilated patients in the ICU.** Chest. 2011;140(6):1612-1617.

Shanely RA, Zergeroglu MA, Lennon SL, Sugiura T, Yimlamai T, Enns D, Belcastro A, Powers SK. **Mechanical ventilation-induced diaphragmatic atrophy is associated with oxidative injury and increased proteolytic activity.** Am J Respir Crit Care Med 2002; 166: 1369–1374.

Smith MA, Reid MB. **Redox modulation of contractile function in respiratory and limb skeletal muscle.** Respir Physiol Neurobiol. 2006 Apr 28;151(2-3):229-41.

Spruit M, Sillen PT, Speksnijder C, Eterman RM, Janssen PP, Wagers S, Wouters E, Uszko-Lencer N. **Effects of Neuromuscular Electrical Stimulation of Muscles of Ambulation in Patients With Chronic Heart Failure or COPD.** CHEST 2009; 136:44–61.

Stevens RD, Dowdy DW, Michaels RK, Mendez-Tellez PA, Pronovost PJ, Needham DM. **Neuromuscular dysfunction acquired in critical illness: a systematic review.** Intensive Care Med 2007; 33(11):1876-1891.

Teboul J, Abrouk F, Lemaire F. **Right ventricular function in COPD patients during weaning from mechanical ventilation.** Int Care Med 1986; 12:33-8.

Tobin M, Perez W, Guenter S. **The pattern of breathing during succesful and unsuccessful trials of weaning from mechanical ventilation.** Am Rev Respir Dis. 1986; 134:1111-1118.

Truong AD, Fan E, Brower RG, Needham DM. **Bench-to-bedside review: mobilizing patients in the intensive care unit--from pathophysiology to clinical trials.** Crit Care. 2009;13(4):216.

Vallverdú I, Calaf N, Subirana M, Net A, Benito S, Mancebo J. **Clinical characteristics, respiratory functional parameters, and outcome of a two-hour T-piece trial in patients weaning from mechanical ventilation.** Am J Respir Crit Care Med 1998; 158:1855-1862.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. **Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease.** International Journal of Biochemistry & Cell Biology 39(1):44-84; 2007.

Zanotti E, Felicetti G, Maini M, Fracchia C. **Peripheral muscle strength training in bed-bound patients with COPD receiving mechanical ventilation: effect of electrical stimulation.** Chest. 2003;124(1):292-6.

Zergeroglu, M. A.; McKenzie, M. J.; Shanely, R. A.; Van Gammeren, D.; DeRuisseau, K. C.; Powers, S. K. **Mechanical ventilation-induced oxidative stress in the diaphragm.** J. Appl. Physiol 2003; 95:1116–1124.

Whidden M, Ashley S, Wu M, Hudson M, Nelson WB, Powers S. **Oxidative stress is required for mechanical ventilation-induced protease activation in the diaphragm.** J Appl Physiol 2010; 108: 1376–1382,

Whidden, M. A.; McClung, J. M.; Falk, D. J.; Hudson, M. B.; Smuder, A. J.; Nelson, W. B.; Powers, S. K. **Xanthine oxidase contributes to mechanical ventilationinduced diaphragmatic oxidative stress and contractile dysfunction.** J. Appl. Physiol 2009; 106: 385-394.



**ANEXO(S)**

## Effects of different therapeutic intervention protocols on clinical indicators and oxidative damage parameters in patients on mechanical ventilation

Joana Torquato<sup>a</sup>, Bruna G. Pozzi<sup>a</sup>, Camila B. Tromm<sup>a</sup>, Gaspar R. Chiappa<sup>b</sup>, Claudio T. Souza<sup>a</sup>, Fabio S. Lira<sup>a</sup>, Renan P. Souza<sup>c</sup>, Ricardo A. Pinho<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Laboratory of Exercise Biochemistry and Physiology, Postgraduate Program in Health Sciences, Health Sciences Unit, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 88806000, Criciúma, SC, Brazil.

<sup>b</sup>Laboratory of Exercise Physiopathology, Department of Cardiology, Hospital de Clínicas, Porto Alegre, RS, Brazil.

<sup>c</sup>Molecular Pharmacoepidemiology Section, Graduate Program in Health Sciences, Health Sciences Unit, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 88806000, Criciúma, SC, Brazil.

**Corresponding author:** Ricardo A. Pinho, PhD. Laboratory of Exercise Biochemistry and Physiology, Postgraduate Program in Health Sciences, Health Sciences Unit, Universidade do Extremo Sul Catarinense, 88806-000 Criciúma, SC, Brazil.

Phone/Fax: + 55 48 3431-2773 / e-mail: [pinho@unesb.net](mailto:pinho@unesb.net)

### Abstract

**Purpose:** This study evaluates the effects of different physical therapy protocols (electrical stimulation and passive exercise) and respective effects on clinical indicators and oxidative damage parameters in patients exposed to MV. **Materials and Methods:** 40 patients, age > 18 yrs, both genders on MV for more than 2 days and who stayed in the ICU for at least 5 days were divided into 4 groups: control (n=12), passive exercise (n=10), electrical stimulation (n=10) and passive exercise plus electrical stimulation (n=8). Clinical data were collected daily and written on the patient's medical record. Blood samples (3-mL) were collected from each patient twice, at the beginning of the implementation of protocols (baseline), and at the end of treatment for oxidative damage analysis.

**Results:** Concerning patient characteristics, no major significant differences were observed between groups, although death during protocol presented a borderline association ( $F = 7.296$ ,  $p = 0.048$ ). No significant difference was observed in clinical data between groups, either on baseline or on their LOCF. While we have not observed significant differences on thiol content variation from baseline ( $H = 2.904$ ,  $p = 0.406$ ), xyleneol variation was significant between groups ( $H = 19.521$ ,  $p = 0.0002$ ). Post hoc analysis indicated significant differences between protocol 1 and 4 ( $q = 3.912$ ) as well as 1 and 3 ( $q = 3.430$ ). Observed variation on xyleneol content is not explained by protocol length ( $p = 0.943$ ).

**Conclusions:** The results on the effects of the protocols used were inconclusive. However, there is evidence that the therapeutic routines reduce oxidative damage. However, further studies with greater control of variables should be carried out, ensuring better stratification of subjects.

**Key words:** Mechanical ventilation, exercise, electrical stimulation, oxidative damage, oxidative stress.

## 1. Introduction

Mechanical ventilation (MV) is an essential ventilatory support in patients with acute respiratory insufficiency in intensive care units (ICU) [1,2]. Long periods of exposure to MV can lead easily to disuse and atrophy of skeletal muscle, a scenario that may promote several changes in the response of blood flow distribution [3,4] as well as in several clinical and metabolic factors [5]. Additionally, these patients present dysfunction of vital organs, sepsis, hypoxemia, acidosis, or drug toxicity that negatively affect the cardiovascular system [6], leading to a clinical picture of high instability.

Problems in weaning patients on MV and prolonged hospitalization have been widely reported, resulting from immobility, respiratory muscle weakness and peripherals as well as poor physical fitness [7]. However, numerous other factors may contribute to delayed weaning, and it is believed that a common cause between patients is muscle weakness and deficits of respiratory resistance [8,9]. In such cases, physical therapy appears to help reduce the problem [7,10,6] but the best physiotherapeutic procedure and the possibility that early physiotherapy increases benefits are issues that remain to be addressed.

Although exercise has been used to improve clinical condition of ICU patients [11], there is a paucity of published information about these effects in patients on MV. In addition, several issues associated with the effects of physiotherapy on clinical indicators and oxidative stress parameters in patients exposed to MV remain unanswered, deserving further investigation, among which: 1) the exposure time to MV has a relationship with oxidative damage; 2) the most effective therapeutic method to reduce the duration on MV and improve the clinical condition of MV patients 3) the minimization of the oxidative damage with early mobilization and physical therapy. In this sense, this study investigates exposure to MV regardless of disease, sex or age. Based on these assumptions and questions, we evaluate the effects of different physical therapy protocols (electrical stimulation and passive exercise) and the effect of these protocols on clinical indicators and oxidative damage parameters in MV patients.

## 2. Materials and Methods

### 2.1 Patients

Study inclusion criteria were patients admitted to the ICU of São José Regional Hospital, Criciúma, Santa Catarina, Brazil, age > 18 yrs, both genders and who received invasive mechanical ventilation for more than 2 days, in the ICU for at least 5 days. Patients with restlessness, confusion, impaired response or absence thereof to simple orders, in shock (systolic blood pressure < 90 mmHg or need for ongoing vasopressors), persistent respiratory failure (defined as respiratory rate 35 breaths/min and/or ratio of  $P_{aO_2}$  to fraction of inspired oxygen ( $F_{IO_2}$ ) < 200 mmHg and/or  $PaCO_2$  > 50mmHg, and/or pH < 7.30), ongoing renal replacement therapy, ongoing intravenous sedation, scheduled extubation, increased intracranial pressure, with implantation of cardiac pacemakers, brain death, technical barriers that do not allow the implementation of the electrodes (i.e. skin burns, and fractures), degenerative neuromuscular diseases, spinal cord injury and pregnancy were excluded. After selection, 40 patients were initially randomized into four groups and classified as control (n=12 – standard care), passive exercise (n=10), electrical stimulation (n=10), and electrical stimulation plus passive exercise (n=8). This study was approved by the local ethics committee under protocol 127/2010. Parents or custodians of the patients signed an informed consent form.

### 2.2 Treatment protocol

Control: Besides usual care, conventional respiratory physiotherapy (re-expansion pulmonary and tracheal aspiration) was conducted twice a day throughout the period that the patient remained in the ICU.

Passive Exercise: included passive mobilization of the patient using repeated involuntary movements of the arms and legs (knee flexion, abduction and hip extension of the lower limbs and extension and shoulder abduction and elbow flexion of upper limbs). One session per day was performed for 20 to 30 minutes as three series of approximately 10 repetitions/series.

Electrical stimulation: Before the protocol was performed, sites were cleansed and the skin was carefully shaved to facilitate electrode attachment (90 × 50 mm) over the motor points of the quadriceps muscle of both legs. The stimulator (KW trademark, manufactured by Industrial Electronic Technology Ltda, Brazil) was set at a 6-second contraction and 12 seconds of relaxation at a frequency of 2500 Hz. Patients received daily sessions of 20 minutes, progressing to 30 minutes for some patients, including 5 minutes to warm-up and 5 minutes for recovery. The sessions continued until extubation.

Electrical stimulation plus passive exercise: the association used included the protocols described above. Electrical stimulation was applied initially, and followed by passive exercise.

### 2.3 Data collection

The clinical data of gas analysis, heart rate, respiratory rate, blood pressure, hemoglobin and hematocrit were collected daily and written on the patient's medical record. Blood samples (3-mL) were collected from each patient twice, at the beginning of the implementation of protocols (baseline) and at the end of treatment. Blood was obtained by venipuncture (antecubital vein) and collected in heparin tubes. Plasma was obtained by centrifugation of blood samples for 10 min at 5000 rpm. The samples were stored at -70 °C for subsequent analysis.

### 2.3 Assays

Oxidation xylene orange (Xylenol): This method detects hydroperoxides (ROOHs) that are the products of lipoperoxidation. The xylenol orange assay is based on oxidation of ferrous ions to ferric ions by ROOHs under acidic conditions. Tissues were homogenized (30 mg/mL) and aliquots (90 µL) were transferred to microcentrifuge vials (1.0 mL). Ten microliters of 10 mM TPP in methanol were added into the vials to reduce ROOHs. All the vials were then vortexed and incubated at room temperature for 30 min prior to the addition of 900 µL of specific buffer. Absorbance of the supernatant was measured at 560 nm using an Ultraspec 2000 spectrophotometer (Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden) as previously described by Jiang et al [12].

Total thiol content: The total thiol content was determined using the 5,5'-dithioibis (2-nitrobenzoic acid) method (DTNB) (Sigma). The reaction was started adding 30 µL of 10 mM DTNB stock solution in PBS. Control samples did not include DTNB. After 30 min of incubation at room temperature, absorbance at 412 nm was measured and the amounts of TNB formed were calculated (equivalent to the amount of SH groups) according to the Aksenov technique [13].

Protein content: Protein content was assayed using bovine serum albumin as standard [14]. A folin phenol reagent (phosphomolybdic-phosphotungstic reagent) was added to bind the protein. The bound reagent was slowly reduced and changed from yellow to blue. Absorbance was read at 750 nm.

### 2.4 Statistical analysis

Statistical analysis was conducted using SigmaStat 3.1 (Systat, Point Richmond, CA, USA). We performed the Kolmogorov-Smirnov test with Lilliefors' correction and Levene median test to assess normality and equal variance, respectively. Categorical data was compared using chi-square tests (identified by  $\chi^2$ ). Continuous data was compared with one way ANOVA (identified by F value) or Kruskal-Wallis one way ANOVA (identified by H value). Parametric ANOVAs were followed by the Holm-Sidak test and non-parametric ANOVAs were followed by Tukey test when sample sizes between groups were equal or Dunn's test when sample sizes between groups were different (e.g. missing data). Linear regressions were used in our exploratory investigation. Statistical significance was claimed when  $p < 0.05$ .

## 3. Results

Epidemiological data is presented in Table 1. No major significant differences were observed between groups, although death during protocol presented a borderline association ( $F = 7.296$ ,  $p = 0.048$ ). We had 33.33% females among subjects submitted to protocol 1 while a lower proportion (12.50%) of female subjects were enrolled in protocol 4. There was no significant

difference between groups, either at baseline (Table 2) or on their Last Observation Carried Forward (LOCF) (Table 3). We did not obtain major significant results after subjects were submitted to any of the four protocols. Though we did not observe significant differences in thiol content variation from baseline ( $H = 2.904$ ,  $p = 0.406$ ), xlenol variation was significant between groups ( $H = 19.521$ ,  $p = 0.0002$ ) (Figure 1). Post hoc analysis indicated significant differences between protocol 1 and 4 ( $q = 3.912$ ) as well as 1 and 3 ( $q = 3.430$ ). Observed variation on xlenol content was not explained by protocol length ( $p = 0.943$ ).

#### 4. Discussion

Advances in the management of MV are needed to obtain better results to shorten weaning times and improve survival rates. This is because although mechanical ventilation is a rescue measure, the longer a patient remains on this life support mode, the higher the odds of complications such as tracheal injuries, infection, cardiovascular and respiratory failure [15]. For example, muscle weakness is a frequent complication associated with disease severity as well as with immobilization duration. Conventional treatments often address the maintenance of circulatory, respiratory and renal function to ensure patient survival. Therefore, most patients on mechanical ventilation receive sedatives and painkillers to reduce stress and oxygen consumption, a strategy that may result in long periods of unconsciousness and immobility [10]. Although physiotherapy is a common practice in most ICUs, few data have been published on its current practice, feasibility, and benefits. Therapeutic actions that may help reduce the harmful effects caused by mechanical ventilation appear to be crucial and necessary in ICUs. Thus, to evaluate the effects of different physiotherapy practices on clinical parameters and systemic oxidative stress in patients on MV, this study used two different protocols, passive exercise and electrical stimulation. The results indicate that physiotherapeutic intervention reduced oxidative damage, though it may not lead to conclusive outcomes regarding protocol length effects – given our sample size. In this sense, this parameter should be investigated in future studies.

Baseline data in Table 1 show similar characteristics among the subjects evaluated. Only the interruption of death was statistically significant in MV, and, interestingly enough, it was observed in patients exposed to protocols 1 and 3. These results are possibly associated with the patient's health. The causes that lead patients to MV are the most diverse possible, and outcomes are likewise quite varied. The interruption of MV caused by death occurs due to severity of disease, and not necessarily due to therapeutic intervention protocols. The average period on MV represents an important parameter when applying intervention protocols to accelerate the weaning outcome. In the present study we did not observe significant differences in this parameter. However, in a study by Ely and colleagues [16] showed that patients on MV who were exposed to the intervention of respiratory therapy MV spans by 1.5 days, with lower morbidity. Kollef et al [17] showed that the group under physiotherapy intervention reduced time on MV and increased the rate of successful weaning. Yet, hospital mortality was similar between the groups.

As for baseline clinical data, no differences were observed among groups (table 2), as well as the LOCF (table 3). Although our results showed no significant changes in clinical variables analyzed, possibly due to differences between subjects concerning time and the cause that led to VM, it was seen that electrical stimulation and/or passive mobilization (passive exercise) is a safe intervention, feasible and well tolerated but also contributes substantially to the improvement of muscle strength [18]. Studies using electrical stimulation reported satisfactory results in chronic patients [19,20]. Zanotti et al. [19] compared a protocol of active exercises and electrical stimulation in patients with severe chronic obstructive pulmonary disease on prolonged MV, and found that the group receiving electrical stimulation achieved a significantly greater increase in muscle strength when compared to control group participants. Chiang and colleagues [21] also found significant increase in limb muscle strength and respiratory function in patients on MV exposed to passive exercise.

ROS generation during MV causes significant damage to biomolecules. The main mechanisms involved in ROS production are directly linked to the oxidation of diaphragmatic myofibrils, proteolysis and activation of xanthine oxidase [22,23,24,25]. Truong et al [26] suggest that more than two weeks in bed is enough for changes in the redox state occur, leading to oxidative damage. Although the time on MV in this study was less than two weeks (Table 1), oxidative damage was observed in all groups. These results are probably due to the patient's

condition itself, and not necessarily to MV time. The results reported here suggest a positive effect of passive exercise performed alone or associated with electrical stimulation against oxidative damage in lipids and proteins, respectively. In recent research Mazullo filho and Colleagues [27] analyzed patients on MV for a period similar to ours, and also observed elevated levels of lipid peroxidation. Similarly, other studies suggest that systemic and tissue oxidative stress arises from muscle atrophy induced by MV, particularly diaphragmatic atrophy, and this increases the degradation of muscle proteins [15]. Levine et al [28] showed that the association of oxidative stress in patients on MV is marked by a lower content of glutathione. Although data in the literature are not consistent, similar studies in humans and animal models also suggest that high metabolic activity as well as the vascular endothelial dysfunction in patients on MV [29] can be determinant for the systemic oxidative damage observed. Therefore, even systemic oxidative damage may have important implications, compromising the health of the patient on MV.

Given the limitations of the present study, it was not possible to provide conclusive results about the effects of the protocols used. However, there is evidence that the therapeutic routines that enhance muscle activity assist in patient recovery on MV and help reduce oxidative damage. However, future studies with greater control of the variables should be carried out, with more representative stratification of subjects.

### **Acknowledgments**

The study was conducted with funding from the FAPESC, CNPq and CAPES. The authors also thank São José Hospital.

### **References**

- [1] Esteban A, Frutos F, Tobin M, Alía I, et al. A comparison of four methods of weaning patients from mechanical ventilation. *N Engl J Med* 1995; 332:345-50.
- [2] Harrison R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? *Free Radic Biol Med* 2002;33:774–97.
- [3] Chiappa GR, Roseguini BT, Vieira PJC, et al. Inspiratory Muscle Training Improves Blood Flow to Resting and Exercise Limbs in Patients with Chronic Heart Failure. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1663-71.
- [4] Borghi-Silva A, Oliveira CC, Carrascosa C, et al. Respiratory muscle unloading improves leg muscle oxygenation during exercise in patients with COPD. *Thorax* 2008; 63:910-5.
- [5] Carvalho CRR, Toufen Junior C, Franca AS. Ventilação mecânica: princípios, análise gráfica e modalidades ventilatórias. *J Bras Pneumol* 2007;33(Supl 2):54-70.
- [6] Schweickert WD, Kress JP. Implementing early mobilization interventions in mechanically ventilated patients in the ICU. *Chest* 2011;140(6):1612-17.
- [7] Morris PE, Goad A, Thompson C, et al Early intensive care unit mobility therapy in the treatment of acute respiratory failure. *Crit Care Med* 2008; 36(8):2238-43.
- [8] Chevrolet J. Difficult weaning from mechanical ventilation. *Lung* 1990;168:829–832.
- [9] De Jonghe B, Sharshar T, Lefaucheur JP, et al. Paresis acquired in the intensive care unit: a prospective multicenter study. *Jama* 2002; 288(22):2859-67.
- [10] Schweickert W, Pohlman M, Pohlman A, et al. Early physical and occupational therapy in mechanically ventilated, critically ill patients: a randomised controlled trial. *Lancet* 2009; 373:1874–82.

- [11] Bourdin G, Barbier J, Burle JF, et al. The Feasibility of Early Physical Activity in Intensive Care Unit Patients: A Prospective Observational One-Center Study. *Respiratory Care*; 2010;55:400-7.
- [12] Jiang Y; Woollard ACS; Wolff SP. Lipid hydroperoxide measurement by oxidation of Fe+2 in the presence of xilenol orange. Comparison with the TBA assay and an Iodometric method. *Lipids* 1991;26:853-6.
- [13] Aksenov MY, Markesbery WR. Changes in thiol content and expression of glutathione redox system genes in the hippocampus and cerebellum in Alzheimer's disease. *Neurosc Letters*. 2001;302:141-5.
- [14] Lowry O, Rosebrough N, Farr L, Randall R. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265-75.
- [15] Powers S, Kavazis A, Levine S. Prolonged mechanical ventilation alters diaphragmatic structure and function. *Crit Care Med* 2009;37(10):347-53.
- [16] Ely EW, Baker AM, Dunagan DP, Burke HL, Smith AC, Kelly PT. Effect on the duration of mechanical ventilation of identifying patients capable of breathing spontaneously. *N Engl J Med* 1996;335(25):1864-9.
- [17] Kollef MH, Shapiro SD, Silver P, St John RE, Prentice D, Sauer S. A randomized, controlled trial of protocol-directed versus physician-directed weaning from mechanical ventilation. *Crit Care Med* 1997;25(4):567-74.
- [18] Pinheiro AR, Christofoletti, G. Motor physical therapy in hospitalized patients in an intensive care unit: a systematic review. *Rev Bras Ter Intensiva* [online]. 2012;24(2):188-96.
- [19] Zanotti E, Felicetti G, Maini M, Fracchia C. Peripheral muscle strength training in bed-bound patients with COPD receiving mechanical ventilation: effect of electrical stimulation. *Chest* 2003;124(1):292-6.
- [20] Gerovasili V, Stefanidis K, Vitzilaos K, et al. Electrical muscle stimulation preserves the muscle mass of critically ill patients: a randomized study. *Critical Care* 2009;13:1-8.
- [21] Chiang LL, Wang LY, Wu CP, Wu HD, Wu YT. Effects of physical training on functional status in patients with prolonged mechanical ventilation. *Phys Ther* 2006;86(9):1271-81.
- [22] Zergeroglu, M. A.; McKenzie, M. J.; Shanely, R. A.; Van Gammeren, D.; DeRuisseau, K. C.; Powers, S. K. Mechanical ventilation-induced oxidative stress in the diaphragm. *J Appl Physiol* 2003; 95:1116–24.
- [23] Betters, J. L.; Criswell, D. S.; Shanely, R. A.; et al. Powers, S. K. Trolox attenuates mechanical ventilation-induced diaphragmatic dysfunction and proteolysis. *Am. J. Respir Crit Care Med* 2004;170:1179–84.
- [24] McClung JM, Whidden MA, Kavazis AN, Falk DJ, Deruisseau KC, Powers SK. Redox regulation of diaphragm proteolysis during mechanical ventilation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2008;294:R1608–R1617.
- [25] Whidden, M. A.; McClung, J. M.; Falk, D. J.; et al. Xanthine oxidase contributes to mechanical ventilation-induced diaphragmatic oxidative stress and contractile dysfunction. *J. Appl. Physiol* 2009;106:385-94.
- [26] Truong AD, Fan E, Brower RG, Needham DM. Bench-to-bedside review: mobilizing patients in the intensive care unit--from pathophysiology to clinical trials. *Crit Care* 2009;13(4):216.

- [27] Mazullo Filho JBR, Bona S, Rosa DP, Silva FG, Forgiarini Junior LA, Dias S, Marroni NP. Os efeitos da ventilação mecânica no estresse oxidativo. *Rev Bras Ter Intensiva* 2012;24: 23-29.
- [28] Levine S, Nguyen T, Taylor N, Friscia ME, Budak MT, Rothenberg P. Rapid disuse atrophy of diaphragm fibers in mechanically ventilated humans. *N Engl J Med* 2008;358:1327–35.
- [29] Landmesser U, Spiekermann S, Dikalov S, et al. Vascular oxidative stress and endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure: role of xanthine-oxidase and extracellular superoxide dismutase. *Circulation* 2002;106(24):3073-8.



### Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

**TÍTULO:** EFEITOS DA MOBILIZAÇÃO MOTORA PRECOCE EM PACIENTES EM VENTILAÇÃO MECÂNICA

**OBJETIVO:** Gostaríamos de avaliar os efeitos de diferentes práticas fisioterapêuticas sobre os parâmetros clínicos e de estresse oxidativo sistêmico em pacientes sob ventilação mecânica.

Para isso, gostaríamos de explicar-lhe como será realizado o trabalho de pesquisa que estaremos realizando neste Centro de Terapia Intensiva. O trabalho envolve o processo de incluir no tratamento uma sequência de exercício para os membros superiores e inferiores. Não será retirado o aparelho de ventilação mecânica, ou seja, o paciente irá fazer os exercícios com o respirador.

Durante todo o procedimento, o paciente será acompanhado por médicos intensivistas e fisioterapeuta e dois alunos do Curso de Fisioterapia da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), durante todo o procedimento terá um aparelho que analisará sua frequência cardíaca (batimentos do coração) através de eletrodos colocados no seu peito. Também será realizado coletas de sangue para análise de componentes do sangue. Esse procedimento poderá levar a hematoma no local, sem risco para a condição de vida do paciente.

A sua autorização no estudo são voluntárias e não acarretará em prejuízos no tratamento, nem em qualquer benefício. Caso tiver dúvidas sobre este estudo, é de seu direito, poder entrar em contato com o **Dr. Ricardo Aurino Pinho** (pesquisador responsável) no telefone **99782104** a qualquer hora.

Estando de acordo com este documento, assino, em duas vias de igual teor, ficando uma em minha posse.

A minha assinatura neste *Consentimento Livre e Esclarecido* dará autorização aos investigadores do estudo, ao comitê de ética do hospital, e a organização governamental de saúde de utilizarem os dados obtidos quando se fizer necessário, incluindo a divulgação dos mesmos, sempre preservando sua privacidade.

Criciúma, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_, \_\_\_\_\_.  
(dia) (mês) (ano)

Assinatura do responsável: \_\_\_\_\_